FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Myeloperoxidase
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS511

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Myeloperoxidase, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. El anticuerpo marca las células positivas para mieloperoxidasa en tejidos normales y neoplásicos, y es útil para diferenciar trastornos linfoides de trastornos mieloides. Un resultado positivo ayuda en la clasificación de tejido neoplásico (p. ej., mieloblastos y células mieloides inmaduras de leucemia mielógena aguda, leucemia progranulocítica, leucemia monomielocítica, eritroleucemia y mieloblastoma) (1). La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un patólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

La mieloperoxidasa (MPO) está compuesta por dos subunidades de 55–60 kDa y dos de 10–15 kDa (3). Es un componente importante de los gránulos azurofílicos de los granulocitos neutrófilos, y también se encuentra en los lisosomas de los monocitos. In vivo, la MPO cataliza la formación de agentes oxidantes y halogenantes antimicrobianos, por ejemplo, el ácido hipoclórico a partir del peróxido de hidrógeno y los iones cloruro (1, 5). La MPO es un marcador importante de las células mieloides, desde la fase promielocítica hasta las formas maduras (1). Los métodos de visualización inmunocitoquímicos sensibles, combinados con técnicas eficientes de revelación de epítopos han mostrado que el 17–23% de las leucemias linfoblásticas agudas de células B precursoras también expresan la MPO, razón por la cual es muy importante usar el anti-MPO junto con anticuerpos contra, por ejemplo, CD3, CD79α y la desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT), en la evaluación inmunohistoquímica de leucemias agudas (2, 3).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: (1) Principio del procedimiento, (2) Material necesario pero no suministrado, (3) Almacenamiento, (4) Preparación de la muestra, (5) Procedimiento de tinción, (6) Control de calidad, (7) Solución de problemas, (8) Interpretación de la tinción y (9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de NaN_3.

Inmunógeno

Mieloperoxidasa aislada de leucocitos polimorfonucleares humanos.

Especificidad

El anticuerpo reacciona con mieloperoxidasa humana. En inmunoelectroforesis cruzada, usando 12,5 µL de anticuerpo concentrado por cm^2 de área de gel frente a 2 µL de mieloperoxidasa, sólo aparece un precipitado correspondiente a la mieloperoxidasa. Tinción: Tinción específica para peroxidasa. Con 2 µL de plasma humano, no aparece ningún precipitado. Tinción: Coomassie Brilliant Blue.

Como es de esperar, en amígdala humana fijada con formol e incluida en parafina, cuando se utiliza un sistema de visualización sensible basado en estreptavidina-biotina, el anticuerpo sólo marca escasos granulocitos neutrófilos.

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ºC. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario deberá comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no puede ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche un problema con el anticuerpo, comuníquese con la asistencia técnica de Dako.

Preparación de las muestras, incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción, incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus utilizando los siguientes protocolos:

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de dispensado de 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de dispensado de 300 µL).
Autoprograma: Myelop (sin contratinción) o MyelopH (con contratinción).

El paso Auxiliar debe configurarse a “tampón de enjuague” en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. Para sesiones de tinción con >10 portaobjetos, el paso Auxiliar debe configurarse a “ninguno”. Esto garantiza tiempos de lavado similares.

Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en la plataforma Dako Autostainer utilizada, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en “Características de resultados”.

Se recomienda la contratinción en hematoxicilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El control positivo de tejido debe incluir amígdala e hígado y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en “Características de resultados” en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS600).

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es citoplasmático.

Características de resultados

Tejidos normales: El anticuerpo marca fuertemente las células mieloides en todas las etapas madurativas. Las células de derivación monocítica revelan reactividad variable y típicamente muestran una reacción positiva débil o nula. Los precursores eritroides, los megacariocitos, las células linfoides, las células plasmáticas, las células dendríticas del retículo, los mastocitos y los vasos sanguíneos son negativos. Algunos histiocitos se marcan, posiblemente debido a material fagocitado (1).

Tejidos anormales: El anti-mieloperoxidasa marca los mieloblastos y las células mieloides inmaduras de leucemia mielógena aguda, leucemia progranulocítica, leucemia monomielocítica, eritroleucemia y mieloblastoma (1). Este anticuerpo no marca células de linfoma o leucemia linfoblásticas, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células peludas, linfoma no Hodgkin o de células T o B, ni enfermedad de Hodgkin (1).

Referencias bibliográficas

1. Pinkus GS, Pinkus JI. Myeloperoxidase: A specific marker for myeloid cells in paraffin sections. Mod Pathol 1991; 4:733.
2. Arber DA, Snyder DS, Fine M, Dagis A, Niland J, Slovak ML. Myeloperoxidase immunoreactivity in adult acute lymphoblastic leukemia. Am J Clin Pathol 2001;116:25–33.
3. Kimura S, Ikeda-Saito M. Human myeloperoxidase and thyroid peroxidase, two enzymes with separate and distinct physiological functions, are evolutionarily related members of the same gene family. Proteins 1988;3:113–20.
4. Weil SC, Rosner GL, Reid MS, Chisholm RL, Lemons RS, Swanson MS, et al. Translocation and rearrangement of myeloperoxidase gene in acute promyelocytic leukemia. Science 1988;240:790–2.
5. Lanza F. Clinical manifestation of myeloperoxidase deficiency. J Mol Med 1998;76:676–81.

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C 8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17